动 物 学 研 究 2012，Feb. 33(1): 79−84 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research DOI：10.3724/SP.J.1141.2012.01079

自发性与膳食诱发性食蟹猴2型糖尿病其相关基因的表达比较

季 芳[1,2], 靳丽莎[1], 曾小明[2], 张秀娟[1], 张艳春[2], 孙云霄[1], 高丽华[3],

何 红[4], 饶军华[2], 刘晓明[1,2], 彭白露[1,5,*]

(1. 广东省昆虫研究所, 广东 广州 510260; 2. 广东蓝岛生物技术有限公司, 广东 广州 510555; 3. 吉林大学第二医院 心血管内科, 吉林 长春 130041; 4. 深圳市福田区慢性病防治院, 广东 深圳 518048; 5. 南方医科大学, 广东 广州 510515)

摘要：采用荧光定量 PCR 技术对自发性和膳食诱发性 T2DM 食蟹猴外周血白细胞中 36 个糖尿病相关基因的表达水平进行分析。在 36 个基因中, 糖尿病组的 *G6PC*、*CCR2B*、*CTLA4* 等 19 个基因的表达量与对照组相比存在显著差异(P<0.05), 且这些基因在诱发组和自发组中的表达模式基本一致。36 个基因中, 诱发组基因的表达量普遍高于自发组, 但大部分基因表达量在两组中差异不显著, 表明诱发性和自发性食蟹猴 T2DM 模型均可作为糖尿病研究较理想的动物模型。因此, 通过高能量膳食诱导的食蟹猴糖尿病模型可以替代自发的糖尿病猴, 且基因表达量的变化可为疾病的诊断和治疗提供帮助。

关键词：2 型糖尿病; 基因表达; 食蟹猴
中图分类号：R587.1; Q959.848; R-332 **文献标志码：**A **文章编号：**0254-5853-(2012)01-0079-06

Comparison of gene expression between naturally occurring and diet-induced T2DM in cynomolgus monkeys

JI Fang[1,2], JIN Li-Sha[1], ZENG Xiao-Ming[2], ZHANG Xiu-Juan[1], ZHANG Yan-Chun[2], SUN Yun-Xiao[1], GAO Li-Hua[3], HE Hong[4], RAO Jun-Hua[2], LIU Xiao-Ming[1,2], PENG Bai-Lu[1,5,*]

(1. *Guangdong Entomological Institute*, *Guangzhou* 510260, *China*; 2. *Guangdong Landau Biotechnology Co. Ltd*, *Guangzhou* 510555, *China*; 3. *Department of Cardiovascular*, *the Second Clinical Hospital of Jilin University*, *Changchun* 130041, *China*; 4. *China Shenzhen Futian Chronic Diseases Control Hospital*, *Shenzhen* 518048, *China*; 5. *Southern Medical University*, *Guangzhou* 510515, *China*)

Abstract: To explore pathological alteration of T2DM in cynomolgus monkeys, gene expression profiles of peripheral blood leukocytes from spontaneous and diet-induced T2DM models was analyzed using quantitative real-time PCR. Among 36 T2DM associated genes tested, 19 genes (including *G6PC*, *CCR2B*, *CTLA4*) displayed a similar expression pattern in both spontaneous and diet-induced T2DM models and were significantly up-regulated or down-regulated compared to controls. Interestingly, expression abundance of all up-regulated genes in the diet-induced T2DM was stronger, although not significantly, than spontaneous models, indicating diet-induced T2DM in monkeys should be a reliable research model for changes in gene expression. The characteristic gene expression pattern obtained here may be useful for the clinical diagnosis of T2DM.

Key words: Type 2 diabetes mellitus (T2DM); Gene expression profile; Cynomolgus monkey

2 型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)是一种以高血糖为主要标志的多病因代谢性疾病。其特征是胰岛素抵抗或胰岛素分泌相对不足, 约占糖尿病患者的 90%以上(Kahn et al, 2006)。T2DM 及其

收稿日期：2011-09-08；接受日期：2011-12-22
基金项目：广州市科技计划项目大型实验动物国际认证及外包服务项目(2009A1-E051); 国家“十二五”人类重大疾病灵长类动物模型资源平台的建设(2011ZX09307-303-03)
*通信作者(Corresponding author)，E-mail: pengbailu@hotmail.com
第一作者简介：季芳(1978－), 女, 研究方向为灵长类实验动物学; E-mail: fang_0818@yahoo.com.cn

并发症的迅速蔓延已经成为严重威胁人类健康的世界性难题, 为寻找有效防治糖尿病及其并发症的药物或方法, 相关动物模型是必不可少的重要工具。目前糖尿病研究多采用啮齿类动物(Babaya et al, 2010; Augstein & Salzsieder, 2009)模型, 但啮齿类与人类的亲缘关系较远, 且寿命短, 因此，并不适于糖尿病机理及其并发症的研究。食蟹猴自发性糖尿病的发生与人类相似, 发病前经历胰岛素抵抗、糖代谢异常、高胰岛素血症等阶段, 并在其后代中也发现糖耐量异常等症状(Wagner et al, 2001), 是进行糖尿病生物医药研究较为理想的模型。

正常动物的 T2DM 自发率很低, 中老年肥胖猴 T2DM 的发病比例约为 3%(Wang et al, 2004)。大量研究表明, 许多动物都可通过食物诱发胰岛素抵抗、血糖升高，甚至 T2DM (Parillo & Ricardi, 2004; Winzell & Ahren, 2004), 其机制可能是游离脂肪酸浓度升高引起胰岛 β 细胞的核排斥和转录因子 FOXA2、HNF1A 的表达降低, 引起β细胞中 GnT-4a 的糖基转移酶表达缺陷, 导致胰岛β细胞功能障碍, 从而引发高血糖(Ohtsubo et al, 2011)。T2DM 是多基因相关的复杂疾病, 其发生发展涉及糖脂代谢、信号转导、炎症因子等基因变化, 肥胖也是 T2DM 的主要诱因之一, 与其相关的基因也参与糖尿病的发生发展。自发性和膳食诱发性糖尿病模型在这些相关基因的表达上是否存在差异，还未见研究报道。

基于此, 本研究利用已有的自发性和膳食诱发性的 T2DM 食蟹猴模型, 分析其外周血白细胞中糖尿病相关基因的表达情况, 探讨这两种模型在相关基因表达上的差异及短期膳食诱导建模对糖尿病相关基因表达的影响。

1 材料与方法

1.1 实验材料

19 只食蟹猴，由华南灵长类研究开发中心提供, 年龄均大于 11 a, 其中 7 只自发性糖尿病猴系从猴群中筛选(Wan et al, 2011)得到; 7 只诱发性糖尿病猴系采用特制高脂饮食(其中 40%的能量来源于脂肪)诱导 18 个月得到。T2DM 猴的诊断标准符合以下要求：FPG≥5.7 mmol/L 且持续存在, 糖耐量异常(IGT), 尿糖阳性。5 只健康对照猴的 FPG<3.60 mmol/L, 糖耐量正常, 尿糖阴性(Jin et al, 2011)。食蟹猴单笼喂养, 所有饲料均由广州饲料研究所生产, 置于 4 ℃冷库中保存, 保质期 2 周。红细胞裂解液自行配制(1.6 mmol/L EDTA, 10 mmol/L $KHCO_3$, 153 mmol/L NH_4Cl, pH 7.4), Trizol 试剂购自 Invitrogen 公司，SYBR® Green 染料及 SYBR® Premix Ex TaqTM 购自 TaKaRa 公司，EasyScript First-Strand cDNA Synthesis SuperMix 由 TransGen Biotech 公司提供。

1.2 实验方法

1.2.1 外周血血清制备、白细胞总 RNA 提取以及 cDNA 制备 食蟹猴禁食 12～14 h 后, 从股静脉取血 5 mL, 肝素钠抗凝, 将其与 25 mL 红细胞裂解液混匀, 冰上放置 30 min, 期间多次上下温和颠倒混匀, 随后离心收集白细胞。采用 Trizol 提取白细胞 RNA(Puissant & Houdebine, 1990), 然后通过凝胶电泳检测 RNA 的质量。取大约 0.5 μg RNA, 用 EasyScript First-Strand cDNA Synthesis SuperMix 将 RNA 逆转录成 cDNA, 制备好的 cDNA 置于−20 ℃保存备用。

1.2.2 血液生化指标检测 食蟹猴禁食 12～14 h 后, 从股静脉取血 3 mL, 室温静置 30 min, 然后 4 ℃, 3 000 r/ min 离心 15 min, 取上层血清, 酶法测定血清中 GLU(葡萄糖)、CHO (胆固醇)、TG(甘油三酯)、HDL-C(高密度脂蛋白)、LDL-C(低密度脂蛋白)的浓度。

1.2.3 糖尿病相关基因引物设计 设计了 36 个糖尿病相关基因人猴通用的引物序列, 并以 *GAPDH* 和 *YWHAZ* 为内参, 所有糖尿病相关基因和内参的 PCR 产物长度均在 180～250 bp 之间。36 个糖尿病相关基因如下：代谢相关酶类：*ACE*、*ACLY*、*G6PC*、*G6PD*、*PARP1*、*PRKAA1*、*PYGL*；受体类：*ADRB3*、*CCR2B*、*CEACAM1*、*CTLA4*、*GCGR*、*ICAM1*、*IL4R*、*NSF*、*SELL*、*SLC2A4*、*SNAP23*、*TNFRSF1A*、*VAMP3*；分泌因子类：*INS*、*RETN*、*TNF*、*VEGF*；信号转导通路类：*MAPK14*、*PIK3C2D*、*PTPN*、*IKBKB*；转录因子类：*FOXG1B*、*FOXP3*、*NEUROD1*、*PPARGC1*、*SREBF1*、*TITF1*；肥胖相关因子类：*CDKN2B*、*IGF2BP2*。

1.2.4 荧光定量 PCR 检测 用 SYBR Green 染料法进行 PCR 分析, 反应体系为 20 μL：10 μL SYBR® Premix Ex TaqTM (2×), 0.4 μL PCR 正向、反向引物(10 μmol/L), 2 μL cDNA 模板(100 ng), 7.2 μLddH_2O。荧光定量 PCR 步骤：(1) 预变性 95 ℃, 30 s; (2) PCR 反应 95 ℃, 5 s; 60 ℃, 34 s, 共 40 个循环; (3) 融解曲线分析：95 ℃, 15 min; 60 ℃, 1 h; 95 ℃,

15 min。

1.2.5　数据分析　采用 ABI StepOne Software v2.1 对荧光定量 PCR 结果进行初步分析，去除无信号、融解曲线差、CT<8 或 CT>35 的反应。以正常或自发型糖尿病组为参照样本，采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法分析各基因的相对表达量，相关数据以 Mean±*SE* 表示。用软件 SPSS17.0 中 Independent Samples Test 以及 AVOVA 分析，*P*<0.05 认为有显著性差异，*P* <0.01 认为有极显著性差异。

2　实验结果

2.1　自发和诱发糖尿病猴的体况与代谢特征指标

自发和诱发糖尿病猴的临床特征见表 1：与对照组相比，自发和诱发的糖尿病猴空腹血糖和 OGTT 2 h 血糖明显偏高(*P＜0.05*；自发型猴的胆固醇和低密度脂蛋白变化不大，分别为（2.25±0.56）mmol/L vs (1.89±0.38) mmol/L 以及(1.07±0.28) mmol/L vs （0.86±0.2）mmol/L，而诱发型糖尿病猴胆固醇、低密度脂蛋白相对应对照组[(14.35±4.32) mmol/L vs (1.89±0.38) mmol/L；(12.02±4.07) mmol/L vs (0.86±0.2) mmol/L]显著升高 (*P*<0.01)。自发猴和诱发猴的甘油三酯均有不同程度的升高。

2.2　自发和诱发型糖尿病食蟹猴外周血白细胞中糖尿病相关基因的表达差异

自发和诱发型糖尿病食蟹猴外周血白细胞中相关基因的表达量见表 2。与对照组相比，36 个基因中，糖尿病组的 *G6PC*、*CCR2B*、*CTLA4* 等 19 个基因表达量变化显著(*P*<0.05)，在糖尿病组中，这 19 个基因在诱发性和自发性糖尿病猴中的表达模式一致。*ADRB3* 和 *SREBF1* 在对照组中表达量极低，但在糖尿病组中均有一定的表达，其中，*ADRB3* 表达量呈下降趋势，且诱发组为自发组的 50%；而 *SREBF1* 表达上调，诱发组的表达量为自发组的 4.31 倍，差异显著(*P*<0.05)。在所分析的 36 个基因中，诱发组基因的表达量普遍高于自发组，但自发和诱发性食蟹猴大部分糖尿病相关基因表达量差异不显著。

表 1　正常组和 T2DM 组食蟹猴的体况与血清生化指标比较

Tab. 1　Anthropometrics and metabolic characteristics of controls and T2DM in the cynomolgus monkey

测定项目 Measurement items	时期 Phase		
	对照组 Control macaques (*n*=5)	自发性糖尿病组 Naturally occurring diabetics (*n*=7)	诱发性糖尿病组 Diet-induced diabetics (*n*=7)
体况指标 Anthropometric			
体重质量指数 BMI (kg/m^2)	39.81±3.79	38.85±6.13	47.71±13.71
血清脂质水平 Fasting serum lipids (mmol/L)			
胆固醇 CHO	1.89±0.38	2.25±0.56	14.35±4.32**↑
甘油三酯 TG	0.66±0.25	1.18±0.24	2.4±2.18*↑
高密度脂蛋白 HDL	1.25±0.19	1.15±0.37	1.88±0.71
低密度脂蛋白 LDL	0.86±0.2	1.07±0.28	12.02±4.07**↑
血糖 Plasma glucose (mmol/L)			
空腹血糖 Fasting glucose	3.3±0.37	9.86±3.09**↑	8.95±1.2**↑
糖耐量 2 h 血糖 2h plasma glucose followed OGTT	3.06±0.38	14.43±4.42**↑	13.59±1.99**↑

数据以平均值±标准误表示; “*”和“**”分别表示与对照相比较，差异显著和极显著。

Values are Means±*SE*; compared control group, the * and ** over bars indicate significantly different with *P*<0.05 and *P*<0.01, respectively.

3　讨　论

国内、外文献显示，中老年人中 T2DM 患病率较高，本研究所选用的 7 只自发性糖尿病食蟹猴均属中老龄(Wan et al, 2011)。T2DM 患者由于胰岛素缺乏或者抵抗，出现血脂代谢异常，典型表现为 TG、LDL 和小低密度脂蛋白(small low-density lipoprotein, sLDL)升高，HDL 降低(Yang, 2004)，且血清总胆固醇的水平与饱和脂肪酸的摄入呈正相关(Mayer- Davis et al, 1999)。本研究中，诱发型食蟹猴的 CHO、LDL 和 TG 相对于正常组显著升高(*P*<0.05)，高脂饮食起到重要作用。调查研究表明，高血糖合并高血脂时，明显加大罹患冠心病的机率(Jia et al, 2007)。自然发病的食蟹猴，其血清 CHO 水平、TG 和 LDL 略有升高，说明在长期渐进性的糖尿病发病过程中血脂有紊乱的迹象，但并不是很

表 2 自发性和诱发性 T2DM 猴糖尿病相关基因相对表达量

Tab.2 Relative expression quantity of T2DM-related genes between naturally occurring and diet-induced diabetes monkeys

基因名称 Gene name	猕猴 GenBank 序列号 Macaque GenBank Accession No.	相对表达量 Relative expression quantity (RQ)		
		对照组 Control group	自发性糖尿病组 Naturally occurring diabetics	诱发性糖尿病组 Diet-induced diabetics
代谢酶类 Metabolic enzymes				
ACE	NM_001135696	1.54±1.75	3.46±1.46	4.51±3.43
ACLY	DQ147961	1.04±0.34	0.18±0.14**↓	0.02±0**↓
G6PC	XM_001100750.2	1.27±0.94	14.99±6.01**↑	13.57±6.81**↑
G6PD	XM_001095273	1±0.04	0.19±0.15**↓	N/A
PARP1	XM_001090628	0.84±0.61	1.22±1.12	0.62±0.32
PRKAA1	CO581780.1	1.38±1.4	2.37±0.9	3.48±2.08
PYGL	XM_001102253	2.09±2.23	6.7±3.66*↑	4.93±2.11
受体与通道类 Receptors and transporters				
ADRB3	NM_001044730.1	N/A	1.05±0.35	0.5±0.35[a]↓
CCR2B	AF013958	1.05±1.45	10.07±3.15**↑	10.25±4.14**↑
CEACAM1	NM_001712	1.05±0.35	89.04±12.4**↑	106.32±24.97**↑
CTLA4	AF344846	0.99±1.22	11.93±1.69**↑	10.49±2.91**↑
GCGR	XM_001111894	1.65±1.74	2.07±1.44	2.29±1.54
ICAM1	NM001047135	0.96±1.24	6.91±2.9*↑	8.33±4.32**↑
IL4R	XM001093763	1.96±2.12	0.82±0.92	2.66±2.7
NSF	XM_001105450	1.18±0.67	12.99±0.3**↑	10.89±2.44**↑
SELL	NM_001042763	1.7±2.22	1.15±0.34	1.04±0.29
SLC2A4	XM_001107391.2	1.11±0.59	1.49±1.34	1.7±0.73
SNAP23	AB172037	1.72±2.11	0.87±0.82	0.96±0.33
TNFRSF1A	XM001118232	1.67±1.92	1.18±0.62	0.87±0.27
VAMP3	XM001095950	1.71±2.22	0.53±0.23	0.56±0.25
分泌因子类 Secreted factors				
INS	J00336	N/A	1.32±1.12	0.9±0.52
RETN	XM_001097265	1±0.1	0.73±0.31	0.67±0.27
TNF	MMU19850	1.6±2.02	7.18±3.83*↑	10.3±5.72**↑
VEGF	XM001089925	N/A	1.05±0.42	1.29±0.57
信号转导通路类 Signal transduction				
MAPK14	XM_001112423.2	1.04±0.28	4.25±2.89*↑	5.42±1.59**↑
PIK3C2B	AB172565	1.29±1	1.94±0.93	1.65±0.7
PTPN	XM_001096053	1±0.1	39.24±22.01*↑	28.39±15.09*↑
IKb	XM_001087248	N/A	1.04±0.29	1.36±0.84[a]↑
转录因子类 Transcription factors				
FOXG1B	XM_001106922.2	N/A	1.45±1.24	1.83±0.39
FOXP3	NM_001032918.1	1.26±1.1	4.98±0.09*↑	5.88±3.3**↑
NEUROD1	XM_001101024	1.59±1.32	5.2±1.8**↑	4.52±1.18*↑
PPARGC1	XM_001105289	2.78±3.78	7.52±1.83**↑	10.16±3.26**↑
SREBF1	XM_001095392.2	N/A	1.04±0.28	3.53±3.4
TITF1	XM_001089773	1.2±0.89	0.44±0.13	0.65±0.14
肥胖基因 Obesity associated gene				
CDKN2B	XM001107263.1	1.38±1.38	5.88±2.54*↑	7.82±3.84**↑
IGF2BP2	XM_001087426	1.04±0.29	58.05±21.87**↑	66.46±13.29**↑
内参基因 Positive control				
GAPDH	XR_010863	1.03±0.26	1.07±0.6	0.91±0.16
YWHAZ	XM_001098275	1.04±0.34	1.18±0.58	1.13±0.23

mRNA 表达量以平均值±标准误表示; "*"和"**"分别表示与对照组相比, 差异显著和极显著; N/A 即无效的。a、b 分别表示与自发组相比, 差异显著和极显著。

Values are Means±*SE*; the * and ** over bars indicate significantly differences at $P<0.05$ and $P<0.01$ compared with the control group. N/A: not available, indicates low expression. The a and b over bars indicate significant differences at $P<0.05$ and $P<0.01$ compared to naturally occurring diabetes.

严重。而高能膳食诱导模型中，CHO 和 LDL 高达（14.35±4.32）nmol/L 和（12.02±4.07）nmol/L，分别约为自发模型的 6 倍和 11 倍，与正常组相比，差异极显著($P<0.01$)。这表明，高脂饮食不仅导致糖尿病，而且能加重血脂代谢紊乱，加剧糖尿病并发症的发生。

在我们研究的代谢相关基因中，ATP 柠檬酸裂解酶(ATP citrate lyase, ACLY)是脂肪酸合成过程中的关键酶，其酶活性可被胰岛素激活(Guay et al, 2007), T2DM 患者胰岛中该酶活性和 mRNA 水平较正常人显著减低 (MacDonald et al, 2009)。本研究中，诱发组和自发组 ACLY 的表达量均显著降低($P<0.01$)，其中自发组 ACLY 表达水平降至正常组的 18%，而诱发组仅为自发组表达量的 11%。位于人类染色体 8q-p12 的 *ADRB3*，是一种分布于脂肪细胞膜上的 β3 肾上腺素接受器，受儿茶酚胺调控。当交感神经兴奋而分泌儿茶酚胺，与细胞膜上的 β3 肾上腺素能受体(β3AR)结合，调节白色脂肪分解和棕色脂肪适应性产热。研究发现，肥胖型大鼠脂肪组织中 *ADRB3* 的表达量下降(Muzzin et al, 1991)。在本研究中，外周血的 ADRB3 表达量亦呈下降趋势，且诱发组仅为自发组的 50%，差异显著($P<0.05$)。胆固醇调节元件结合蛋白(SREBPs)是一种重要的核转录因子，主要参与脂的合成代谢和胰岛素诱导的葡萄糖代谢(Felder et al, 2007)。我们检测到，外周血中，糖尿病组的 *SREBF1* 表达上调，其中，诱发组的表达量为自发组的 4.31 倍，差异显著($P<0.05$)。这些现象表明高脂饮食显著影响到与糖脂代谢相关的基因活性，加速糖脂代谢紊乱。

其他受高脂饮食影响的基因还包括与胰岛素抵抗相关的因子，如 CDKN2B，CEACAM1(癌胚抗原相关细胞黏附分子 1), IGF2BP2(胰岛素样生长因子 2mRNA 结合蛋白 2)。CDKN2B 通过 cyclin D 抑制 CDK4 的活性，调节细胞周期，影响胰岛细胞的增殖与再生(Duesing et al, 2008); CEACAM1 与细胞间黏附、细胞内信号相关，调节免疫反应，它在肝脏中的过度表达增加受体介导的胰岛细胞内吞和降解，影响胰岛细胞清除以及改变脂肪代谢(Najjar, 2002)，且该基因在肥胖和脂肪肝患者的肝脏中表达量显著下降(Lee, 2011)。本研究中，该基因在外周血中表达量升高；IGF2BP2 引起胰岛素抵抗，增加 T2DM 发病的危险(Wu et al, 2008)。上述基因，尤其是 CEACAM1 和 IGF2BP2，在糖尿病组的表达量相对于对照组显著增加，诱导组的表达量分别为对照组的 106 倍和 66 倍之多。这些基因表达量的差异可为 T2DM 的诊断和治疗提供帮助。

目前，T2DM 发病率越来越高，也趋于年轻化，高脂饮食是其重要诱因，诱发性模型的建立对此予以进一步证实。我们通过对自发猴和诱发猴糖尿病相关基因的表达分析发现，36 个目标基因中，相对于正常组，糖尿病组的 *ACLY*、*G6PC*、*G6PD* 等 19 个基因表达量变化显著($P<0.05$)。诱发模型与对照组相比，有差异的基因基本涵盖了所有自发模型与对照组差异表达的基因，这些基因在诱发组和自发组中表现为表达量的一致性升高或降低。诱发组基因表达量普遍高于自发组，但绝大多数基因的表达量在两者之间差异不显著，说明诱发模型能较好的替代自发模型。膳食诱发模型缩短了疾病的发生时间，可能是诱导大量糖尿病相关基因高效表达的结果，但确切结论还需要在大量样本中加以验证。

参考文献：

Augstein P, Salzsieder E. 2009. Morphology of pancreatic islets: a time course of pre-diabetes in Zucker fatty rats[J]. *Methods Mol Biol,* **560**: 159-189.

Babaya N, Fujisawa T, Nojima K, Itoi-Babaya M, Yamaji K, Yamada K, Kobayashi M, Ueda H, Hiromine Y, Noso S, Ikegami H. 2010. Direct evidence for susceptibility genes for type 2 diabetes on mouse chromosomes 11 and 14[J]. *Diabetologia,* **53**(7): 1362-1371.

Duesing K, Fatemifar G, Charpentier G, Marre M, Tichet J, Hercberg S, Balkau B, Froguel P, Gibson F. 2008. Strong association of common variants in the *CDKN2A/CDKN2B* region with type 2 diabetes in French Europids [J]. *Diabetologia,* **51**(5): 821-826.

Felder TK, Oberkofler H, Weitgasser R, Mackevics V, Krempler F, Paulweber B, Patsch W. 2007. The SREBF-1 locus is associated with type 2 diabetes and plasma adiponectin levels in a middle-aged Austrian population[J]. *Int J Obesity,* **31**(7): 1099-1103.

Guay C, Madiraju SRM, Aumais A, Joly É, Prentki M. 2007. A role for ATP-citrate lyase, malic enzyme, and pyruvate/citrate cycling in glucose-induced insulin secretion[J]. *J Biol Chem,* **282**(49): 35657-35665.

Jia GL, Lu Y, Fan HY, Wan LX. 2007. Clinical analysis of 87 cases of coronary heart disease with type 2 diabetes[J]. *Mod Health-Med INNov Res,* 4(35): 72-74. [贾关亮, 卢颖, 范慧云, 王丽霞. 2007. 2 型糖尿病合并冠心病 87 例临床分析[J]. 现代保健: 医学创新研究, **4**(35): 72-74.]

Jin LS, Hao XF, Peng BL, Zhang YC, Wan YL, Ji F, Xia JL, Liu XM. 2011. Differential expression of six obesity-related genes with different disease phases of T2DM in cynomolgus monkey[J]. *Zool Res,* 32(1): 50−55. [靳丽莎, 郝香芬, 彭白露, 张艳春, 万玉玲, 季芳, 夏机良, 刘晓明. 2011. 六个肥胖相关基因在食蟹猴 2 型糖尿病不同发病时

期的差异表达[J]. 动物学研究, **32**(1): 50-55.

Kahn SE, Hull RL, Utzschneider KM. 2006. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes[J]. *Nature,* **444**(7121): 840-846.

Lee W. 2011. The CEACAM1 expression is decreased in the liver of severely obese patients with or without Diabetes[J]. *Diagn Pathol,* **6**(1): 40-46

MacDonald MJ, Longacre MJ, Langberg EC, Tibell A, Kendrick MA, Fukao T, Ostenson CG. 2009. Decreased levels of metabolic enzymes in pancreatic islets of patients with type 2 diabetes[J]. *Diabetologia,* **52**(6): 1087-1091.

Muzzin P, Revelli JP, Kuhne F, Gocayne JD, McCombie WR, Venter JC, Giacobino JP, Fraser CM. 1991. An adipose tissue-specific beta-adrenergic receptor. Molecular cloning and down-regulation in obesity[J]. *J Biol Chem,* **266**(35): 24053-24058.

Mayer-Davis EJ, Levin S, Marshall JA. 1999. Heterogeneity in associations between macronutrient intake and lipoprotein profile in individuals with type 2 diabetes [J]. *Diabetes Care***,** **22**(10): 1632-1639.

Najjar SM. 2002. Regulation of insulin action by CEACAM1[J]. *Trends Endocrin Metab,* **13**(6): 240-245.

Ohtsubo K, Chen MZ, Olefsky JM, Marth JD. 2011. Pathway to diabetes through attenuation of pancreatic beta cell glycosylation and glucose transport[J]. *Nat Med,* 1**7**(9): 1067-1075.

Parillo M, Ricardi G. 2004. Diet composition and the risk of type 2 diabetes: epidemiological and clinical evidence[J]. *Br J Nutr,* 92(1): 7-19.

Puissant C, Houdebine LM. 1990. An improvement of the single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction[J]. *Biotechniques,* **8**(2): 148-149.

Wagner JD, Cline JM, Shadoan MK, Bullock BC, Rankin SE, Cefalu WT. 2001. Naturally occurring and experimental diabetes in cynomolgus monkeys: a comparison of carbohydrate and lipid metabolism and islet pathology[J]. *Toxicol Pathol,* **29**(1): 142-148.

Wan YL, Zhang YC, Peng BL, Li XJ, Ji F, Jin LS, Rao JH, Liu XM. 2011. Screening of spontaneous diabetes mellitus in middle- and old-aged cynomolgus monkey[J]. *Zool Res,* **32**(3): 307-311. [万玉玲, 张艳春, 彭白露, 李学家, 季芳, 靳丽莎, 饶军华, 刘晓明. 2011. 中老年食蟹猴群体自发型糖尿病的筛选[J]. 动物学研究, 32(3): 307-311.]

Wang YJ, Ye HH, Shao JS. 2004. Discussion of rhesus monkey model of the spontaneous diabetes[J]. *Chin J Comp Med,* **4**(1): 13-15. [王艳静, 叶华虎, 邵军石. 2004. 猕猴自发性糖尿病动物模型的初步探讨[J]. 中国比较医学杂志, 4(1): 13-15.]

Winzell MS, Ahren B. 2004. The high-fat diet-fed mouse: a model for studying mechanisms and treatment of impaired glucose tolerance and type 2 diabetes[J]. *Diabetes,* **53**(suppl. 3): S215-S219.

Wu Y, Li HX, Ruth JF, Yu ZJ, Ye XW, Chen LH, Pan A, Hu FB, Lin X. 2008. Common variants in CDKAL1, CDKN2A/B, IGF2BP2, SLC30A8, and HHEX/IDE genes are associated with type 2 diabetes and impaired fasting glucose in a Chinese Han population [J]. *Diabetes,* **57**(10): 2834-2842.

Yang WY. 2004. The possible mechanism of dyslipidemia associated with type 2 diabetes[J]. *Sect Endocrinol Fore Med Sci,* 24(3): 1-3. [杨文英. 2004. 2 型糖尿病伴血脂异常的可能机制[J]. 国外医学 (内分泌学分册), 2004, 24(3): 1-3.]